



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Patentschrift**
⑩ **DE 196 48 876 C 2**

⑤① Int. Cl.⁶:
A 61 L 27/00
A 61 F 2/28
C 12 N 5/06
C 12 N 5/08

②① Aktenzeichen: 196 48 876.1-45
②② Anmeldetag: 26. 11. 96
④③ Offenlegungstag: 28. 5. 98
④⑤ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 7. 10. 99

DE 196 48 876 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑥⑥ Innere Priorität:
196 47 531. 7 16. 11. 96

⑦③ Patentinhaber:
Minuth, Will, Prof. Dr., 93077 Bad Abbach, DE

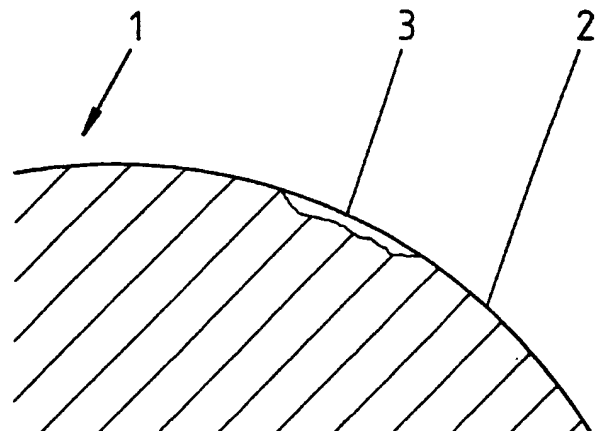
⑦④ Vertreter:
Patentanwälte Wasmeier, Graf, 93055 Regensburg

⑦② Erfinder:
gleich Patentinhaber

⑤⑤ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:
DE 44 26 315 C1
DE 40 40 872 C2
DE 38 10 803 A1
CH 6 83 747 A5
EP 07 39 631 A2
WO 96 01 641 A1
WO 94 20 151 A1

⑤④ **Verfahren zum Herstellen eines natürlichen Implantats**

⑤⑦ Verfahren zum Herstellen eines natürlichen Implantats für Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers, bei welchem Verfahren körpereigene Zellen (9) auf einer Zellunterlage (8) unter Verwendung eines Kulturmediums zur Bildung des Implantats (4) vermehrt und/oder differenziert werden, dadurch gekennzeichnet, daß eine dünne, folienartige Zellunterlage (8) auf einen porösen Träger (6) aufgelegt, der entsprechend der gewünschten Implantat-Oberfläche geformt ist, und die auf die Zellunterlage (8) aufgebrachten körpereigenen Zellen mit einer Überschichtung (10) aus einem Material überdeckt werden, welches eine natürliche Einheilung bewirkt oder fördert, wobei die Überschichtung ein Gerüst bildet, in welchen die Zelle sich dreidimensional vermehren und ausbreiten.



DE 196 48 876 C 2

BEST AVAILABLE COPY

Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren gemäß Oberbegriff Patentanspruch 1 oder 3.

Bei dem bisher bekannten Tissue-Engineering (WO 94/20151) ist es üblich, eine dreidimensionale Zellunterlage bzw. einer Matrix zu verwenden, auf die die Zellen aufgebracht werden und in der sich die Zellen einlagern können. Diese Matrix besteht beispielsweise aus einem biologisch abbaubaren Stoff, beispielsweise aus einem Milchsäurederivat (Laktat) und ist wegen der erforderlichen Steifigkeit als relativ dickes Vlies ausgebildet. Die Matrix ist mit einem Klebstoff, an der das Anhaften der Zellen ermöglicht, z. B. mit Polylysine beschichtet. Auf diese beschichtete Oberfläche werden dann die Zellen aufgebracht, die in einer Perfusionskammer die Zellen vermehrt und differenziert werden, so daß spezielle Eigenschaften ausgebildet werden können.

Anwendbar ist dieses bekannte Verfahren beispielsweise zum Herstellen von natürlichen Knorpelstücken und auch Knochen. Nicht möglich ist mit diesem bekannten Verfahren aber die Herstellung von Gewebestücken, die eine in einer bestimmten Form geformte Oberfläche aufweisen, beispielsweise eine konkave oder konvexe Oberfläche mit einem vorgegebenen Verlauf.

Nachteilig ist bei dem bekannten Verfahren auch, daß aus der aus Stabilitätsgründen benötigten Laktat-Matrix Stoffe freigesetzt werden, die die Zellen bzw. das Gewebe schädigen können.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren aufzuzeigen, mit welchem die Herstellung eines natürlichen Implantats insbesondere auch ohne eine Laktat- oder Polylaktat-Matrix und mit einer gewünschten Oberflächenform möglich ist.

Zur Lösung dieser Aufgabe ist ein Verfahren entsprechend dem kennzeichnenden Teil des Patentanspruches 1 oder 3 ausgebildet.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren wird eine dünne, membranartige Zellunterlage verwendet, die lediglich als Auflage für Zellen dient und kein räumliches Gerüst bildet, in welches sich die Zellen einlagern können. Die Zellunterlage ist beispielsweise ein Zuschnitt aus einer körperverträglichen oder biologisch abbaubaren Folie oder ein körpereigenes Flachmaterial, beispielsweise Periost oder Perichondrium. Nicht benötigt wird bei dem erfindungsgemäßen Verfahren als Zellunterlage eine vlies- oder gewebeartige Struktur, die ein dreidimensionales Gerüst für die Zellen bildet und in die sich Zellen einnisten können. Um ein dreidimensionales Vermehren der Zellen zu ermöglichen, sind die auf der Zellunterlage aufgetragenen Zellen mit einem Material überschichtet, welches demjenigen Material entspricht, das bei Wunden im menschlichen oder tierischen Körper die Einheilung ermöglicht. Als derartiges Kontaktmaterial eignet sich beispielsweise natürliches Blutkoagulat, und/oder ein Material, welches dem natürlichen Blutkoagulat entspricht, und/oder ein Fibrinkleber und/oder ein Kollagen. Grundsätzlich besteht auch die Möglichkeit, die Zellen vor dem Aufbringen auf die Zellunterlage mit dem für die Überschichtung verwendeten Material zu vermischen bzw. zu polymerisieren und dann dieses Gemisch auf die Zellunterlagen aufzubringen.

Die Überschichtung bildet dann ein Gerüst, in welchem sich die Zellen dreidimensional vermehren bzw. ausbreiten können.

Die dünne Zellunterlage, der die mechanische Steifigkeit oder Festigkeit nicht aufweist, liegt auf der Oberfläche eines porösen Trägers auf. Diese Oberfläche ist dann entsprechend der für das Implantat gewünschten Fläche geformt, und zwar beispielsweise konkav oder konvex. Die Form für

die genannte Fläche wird z. B. diagnostisch derart ermittelt, daß die genannte Fläche des Implantats der Form des Gewebes in dem Bereich entspricht, in welchem das Implantat implantiert werden soll.

Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren können natürliche Implantate für die unterschiedlichsten Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers sowie auch mit unterschiedlichsten Funktionen hergestellt werden. Weiterbildungen der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

Die Erfindung wird im Folgenden anhand der Figuren an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 in sehr vereinfachter Darstellung ein menschliches Gelenk, z. B. Hüftgelenk mit einem Defekt an einer Gelenkfläche;

Fig. 2 das Gelenk der Fig. 1 zusammen mit einem an der defekten Gelenkfläche eingesetzten natürlichen Implantat;

Fig. 3 einen von einem Metallsieb gebildeten Gewebeträger zur Herstellung des natürlichen Implantats, zusammen mit einer in diesem Gewebeträger eingeformten Mulde;

Fig. 4 einen Schnitt entsprechend der Linie I-I der Fig. 3;

Fig. 5 eine Darstellung wie Fig. 4, jedoch bei in die Mulde eingelegtem dünnen Zellträgermaterial bzw. Zellauf-lage sowie bei auf dieser Zellauf-lage wachsenden patienten-eigenen Zellen;

Fig. 6 in vereinfachter Darstellung und im Schnitt eine Perfusions-Kammer zur Versorgung der patienten-eigenen Zellen während der Bildung des natürlichen Implantats;

Fig. 7 in sehr vereinfachter, schematischer Darstellung einen gesplitteten Knochenbruch mit einem eine Wachstums-brücke bildenden Implantat.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand der Figuren an einem Verfahren erläutert, welches zum Herstellen eines natürlichen Knochen-Implantats 4 dient. In den Figuren ist 1 ein Hüftgelenk. Im Bereich der Gelenkfläche 2 befindet sich ein Defekt 3, welcher durch das natürliche Implantat 4, d. h. durch ein Implantat 4 hergestellt aus patienteneigenen Zellen behoben werden soll.

Zur Herstellung des Implantats 4 dient ein scheibenförmiger poröser Träger 6, der beispielsweise aus einem netz- oder siebartigen Material aus Metall oder Kunststoff mit ausreichender Festigkeit hergestellt ist. In den Träger 6 ist eine Mulde 7 eingeformt, die in ihrer Wölbung der Wölbung entspricht, die die Gelenkfläche 2 im Bereich des Defektes 3 aufwies und deren Umfangslinie der Form des Implantates 4 bzw. der dieses Implantat 4 aufnehmenden Ausnehmung 5 im Gelenk 2 entspricht. Die Form der Mulde 7 wird mit einem geeigneten diagnostischen Verfahren, beispielsweise mittels Computertomographie ermittelt.

In die Mulde 7 wird als Zellunterlagenmaterial oder Zellauf-lage eine dünne Membrane 8 eingelegt, die aus einem als Unterlage für Zellen geeigneten Material besteht, beispielsweise auch aus einem patienten-eigenen, natürlichen Häutchen.

Gegebenenfalls ist die Membrane 8 an der dem Träger 6 abgewandten Seite mit einem das Anhaften von natürlichen Zellen 9 fördernden Klebstoff, beispielsweise mit Fibrinkleber, Kollagen, natürlichem Blutkoagulat usw. versehen. Die Membrane 8 ist beispielsweise eine natürliche Haut, z. B. Knochenhaut bzw. Periost oder Perichondrium usw.

Auf der Membrane oder Zellunterlage 8 werden die patienten-eigenen Zellen 9 (Knorpel bzw. Knochen bildende Zellen) aufgebracht. Im Anschluß daran wird die von den Zellen 9 gebildete Zellenlage mit einem das natürliche Wachstum bzw. die natürliche Heilung fördernden oder ermöglichenden Stoff überschichtet. Wie bei einer natürlichen Wund-Heilung können die Zellen 9 sich dann in dieser Überschichtung oder Schicht 10 dreidimensional ausbreiten. Mit Hilfe von Haltearmen oder Halte-fingern 11 sind die

Membrane 8, die Zellen 9 und auch die Überschichtung 10 am Träger 6 gehalten. Die spinnenfußartigen Haltefinger 11 sind beispielsweise am Träger 6 oder an einem diesen Träger 6 tragenden und umschließenden Ring 12 befestigt.

Der Träger 6 wird mit der Membrane 8, den Zellen 9 und der Überschichtung 10 in eine Perfusionskammer 13 eingesetzt, die in der Fig. 6 im Schnitt wiedergegeben ist. Die Perfusionskammer 13 besteht im wesentlichen aus den beiden Gehäuseteilen 14 und 15, von denen das Gehäuseteil 14 eine untere Kammer 16 und das Gehäuseteil 15 eine obere Kammer 17 bildet. Zwischen diesen beiden Kammern ist der Träger 6 mit der Membrane 8, den Zellen 9 und der Überschichtung 10 derart angeordnet, daß der Träger 6 in einer horizontalen oder im wesentlichen horizontalen Ebene liegt und der unteren Kammer 16 zugewandt ist, während die Überschichtung 10 der oberen Kammer 17 zugewandt ist. An der unteren Kammer 16 ist ein Zulauf 18 für ein flüssiges Kulturmedium zum Versorgen der Zellen 9 vorgesehen. An der oberen Kammer 17 ist ein Ablauf 19 zum Abführen des flüssigen, dann auch Stoffwechselprodukte enthaltenen Kulturmediums vorgesehen.

Bei der dargestellten Ausführungsform befinden sich der Zulauf und Ablauf jeweils in der Mitte unter bzw. über dem Träger 6, wobei das Kulturmedium die Kammern 16 und 17 jeweils von unten nach oben durch- und umströmt. Durch die horizontale Anordnung des Trägers 6 ist gewährleistet, daß störende Bestandteile bzw. Stoffwechselprodukte optimal und schnell von den Zellen 9 abgeführt werden.

Nach dem Vermehren und Differenzieren der Zellen 9 in der Perfusionskammer 13 wird der sich dreidimensional ausgebildete Zellenverband aus der geöffneten Perfusionskammer und vom Träger 6 abgenommen und als Implantat 4 in die während der Operation in das Gelenk 1 eingebrachte Ausnehmung 5 eingesetzt. Die Überschichtung 10 liegt dann innen in direktem Kontakt zur Knorpel-Knochengrenze. Die Membrane 8 liegt außen und wird beispielsweise nach dem Einsetzen des Implantats 4 abgezogen. Grundsätzlich besteht aber auch die Möglichkeit, die Membrane 8 auf dem Implantat 4 belassen wird, und zwar insbesondere dann, wenn die Membrane 8 aus einem körpervertäglichen und sich im Körper anbauenden Material besteht. Die Membrane 8 liegt außen und dient u. a. als Schutzschicht beim Handling des Implantats 4.

Das hergestellte Implantat 4 hat den Vorteil, daß es ausschließlich aus patienten-eigenen Zellen besteht. Dadurch, daß die Überschichtung 10 innen an der Knorpel-Knochengrenze liegt, ist ein schnelles Einheilen bzw. Einwachsen des Implantats 4 gewährleistet. Die bisher beim Tissue-Engineering üblichen Zellunterlagen, die zu einer hohen partiellen Übersäuerung und hieraus resultierenden Gewebeschäden führen, sind vermieden. Weiterhin ist es mit dem beschriebenen Verfahren möglich, die Form des Implantats 4 der jeweiligen natürlichen Form des mit dem Implantat zu versehenen Gewebes optimal anzupassen.

Die Fig. 7 zeigt in sehr vereinfachter Darstellung einen gesplitteten Knochenbruch. Mit 4a ist ein Implantat bezeichnet, welches in diesen gesplitteten Knochenbruch eingesetzt ist und eine Art Wachstumsbrücke bildet. Das Implantat 4a ist grundsätzlich in der gleichen Weise hergestellt, wie dies vorstehend für das Implantat 4 beschrieben wurde. Als Membran 8 bzw. Zellunterlage eignet sich beispielsweise ein Stück Periost, also ein Material, welches auch bei der natürlichen Knochenheilung die Regeneration des Gewebes ermöglicht. Weiterhin kann das beschriebene Verfahren auch für Implantate für andere Gewebe des menschlichen und tierischen Körpers verwendet werden. Insbesondere ist es mit dem erfindungsgemäßen Verfahren auch möglich, natürliche Implantate herzustellen, die in bestimm-

ten Geweben als Modul eingesetzt werden und dort Funktionen dieses Gewebes, beispielsweise die Produktion von Insulin übernehmen, die dem Gewebe z. B. durch Krankheit usw. verlorengegangen ist.

Die Erfindung wurde voranstehend an Ausführungsbeispielen beschrieben. Es versteht sich, daß zahlreiche Änderungen sowie Abwandlungen möglich sind, ohne daß dadurch der der Erfindung zugrundeliegende Erfindungsgedanke verlassen wird. So ist es insbesondere auch möglich, die Zellen 9 vor dem Aufbringen auf die Membran 8 gentechnisch zu verändern, und zwar beispielsweise mit einem speziellen Wachstumsogen, um ein beschleunigtes Wachstum und Differenzieren der Zellen 9 durch die von ihnen erzeugten mitogenen und morphogenen Substanzen zu erreichen.

Mit 12' ist ein Klemmring bezeichnet, mit dem der Träger 6 im Ring 12 befestigt ist.

Bezugszeichenliste

- 1 Gelenk
- 2 Gelenkfläche
- 3 Defekt
- 4 Implantat
- 5 Ausnehmung
- 6 Träger
- 7 Mulde
- 8 Membran
- 9 Zelle
- 10 Überschichtung
- 11 Haltefinger
- 12 Ring
- 12' Klemm- oder Fixierring
- 13 Perfusionskammer
- 14, 15 Gehäuseteil
- 16, 17 Kammer
- 18 Zulauf
- 19 Ablauf

Patentansprüche

1. Verfahren zum Herstellen eines natürlichen Implantats für Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers, bei welchem Verfahren körpereigene Zellen (9) auf einer Zellunterlage (8) unter Verwendung eines Kulturmediums zur Bildung des Implantats (4) vermehrt und/oder differenziert werden, dadurch gekennzeichnet, daß eine dünne, folienartige Zellunterlage (8) auf einen porösen Träger (6) aufgelegt, der entsprechend der gewünschten Implantat-Oberfläche geformt ist, und die auf die Zellunterlage (8) aufgetragenen körpereigenen Zellen mit einer Überschichtung (10) aus einem Material überdeckt werden, welches eine natürliche Einheilung bewirkt oder fördert, wobei die Überschichtung ein Gerüst bildet, in welchen die Zelle sich dreidimensional vermehren und ausbreiten.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die körpereigenen Zellen vor dem Aufbringen auf die Zellunterlage mit dem die natürliche Heilung ermöglichenden oder fördernden Material vermischt werden.
3. Verfahren zum Herstellen eines natürlichen Implantats für Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers, bei welchem Verfahren körpereigene Zellen (9) auf einer Zellunterlage (8) unter Verwendung eines Kulturmediums zur Bildung des Implantats (4) vermehrt und/oder differenziert werden, dadurch gekennzeichnet, daß eine dünne, folienartige Zellunterlage (8) auf einen porösen Träger (6) aufgelegt, der entspre-

chend der gewünschten Implantat-Oberfläche geformt ist, und die körpereigenen Zellen mit einem Material vermischt auf die Zellunterlage (8) aufgebracht werden, welches eine natürliche Einheilung bewirkt und ein Gerüst bildet, in welchen die Zelle sich dreidimensional vermehren und ausbreiten. 5

4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Übersichtung (10) ein Material verwendet wird, welches aus wenigstens einem der nachfolgenden Stoffe besteht oder wenigstens einen der nachfolgenden Stoffe enthält, 10

Fibrinkleber,
Kollagen haltiges Material,
natürliches Blutkoagulat und/oder dem natürlichen Blutkoagulat entsprechendes Material. 15

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger aus einem sieb- oder netzartigen Material besteht.

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger aus einem sieb- oder netzartigen Material aus Metall besteht. 20

7. Verfahren nach Anspruch, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger aus einem sieb- oder netzartigen Material aus Kunststoff besteht.

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (6) zumindest in einem Oberflächenbereich (7), auf dem die Zellunterlage (8) aufgelegt wird, der äußeren Form desjenigen Gewebes (1) entsprechend geformt ist, in welches das Implantat (4) implantiert werden soll. 30

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Zellunterlage (8) eine dünne Membran oder ein dünnes Häutchen verwendet wird.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß als Zellunterlage (8) ein natürliches Häutchen, insbesondere Periost oder Perichondrium verwendet wird. 35

11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Behandlung der Zellen (9) mit dem Kulturmedium in einer Perfusionskammer (13) erfolgt, in der die Zellunterlage (8) horizontal oder im wesentlichen horizontal angeordnet ist. 40

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (6) mit der Zellunterlage (8) in der Kammer (13) von unten nach oben mit dem Kulturmedium durch- und/oder umströmt wird. 45

13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellunterlage (8) und die auf diesem vorgesehenen Zellen (9) durch mechanische Mittel am Träger (6) fixiert werden. 50

14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellunterlage (8) vor dem Aufbringen der Zellen (9) mit einem ein Anhaften der Zellen bewirkenden Medium versehen wird. 55

15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellunterlage (8) vor dem Aufbringen der Zellen (9) mit einem Fibrinkleber versehen wird. 60

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

Fig. 1

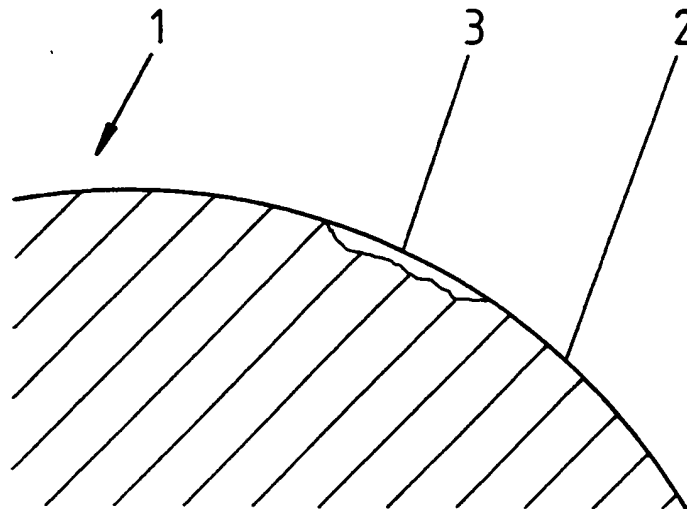


Fig. 2

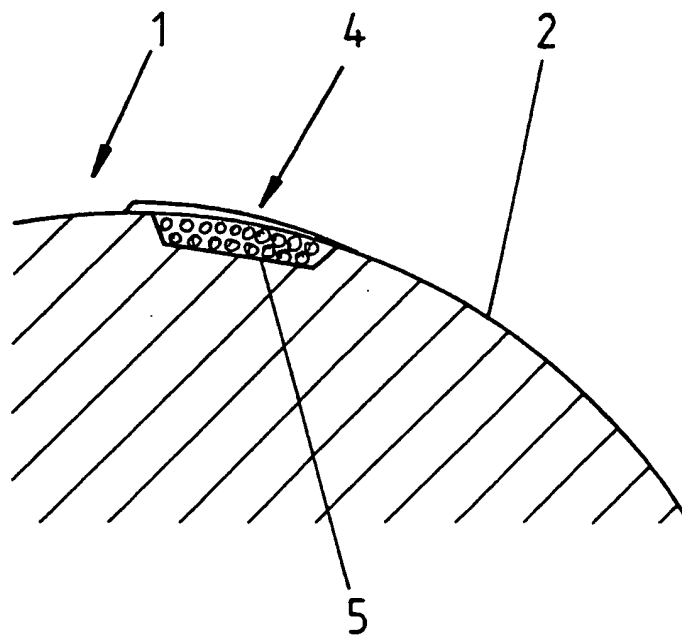


Fig. 3

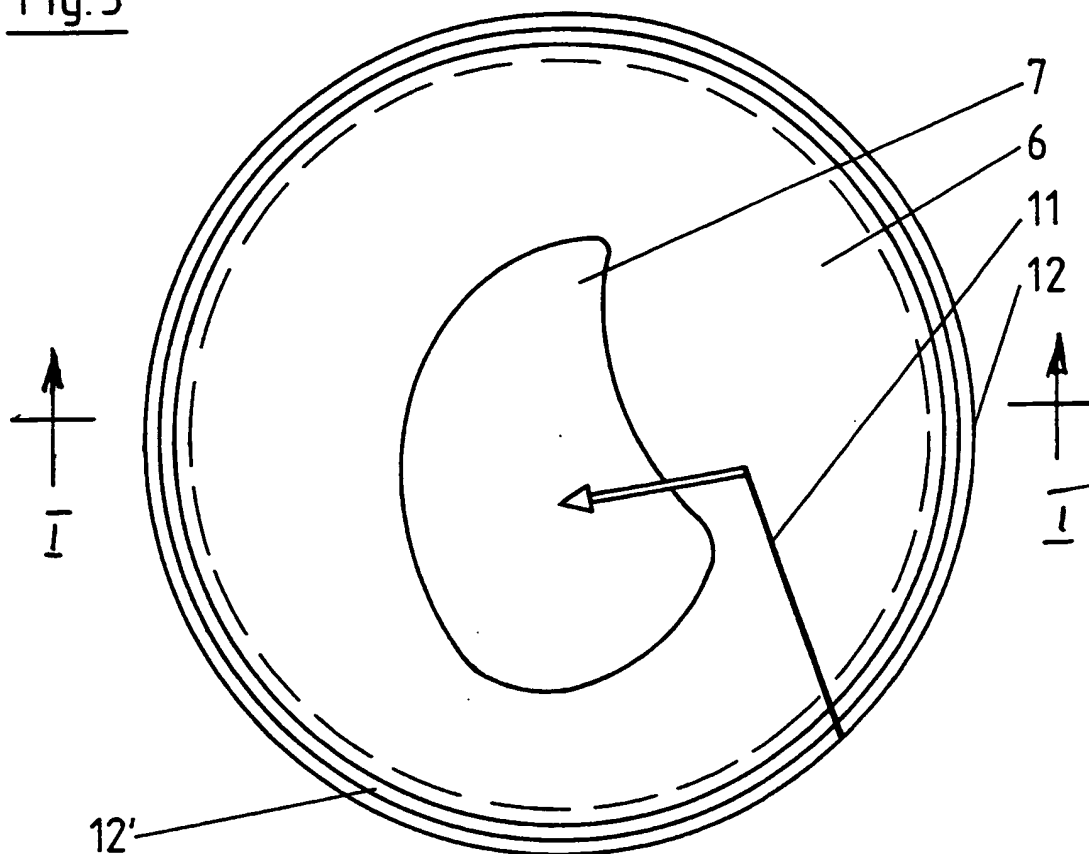


Fig. 4

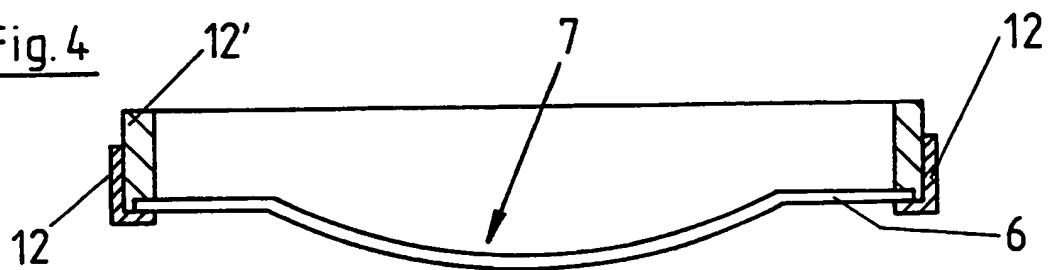


Fig. 5

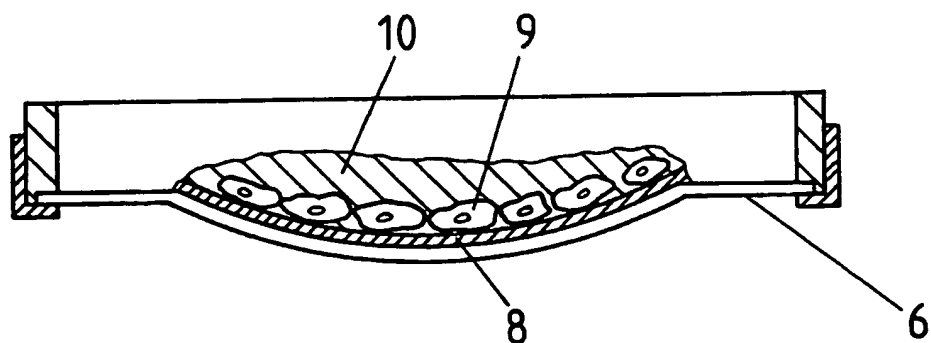


Fig. 6

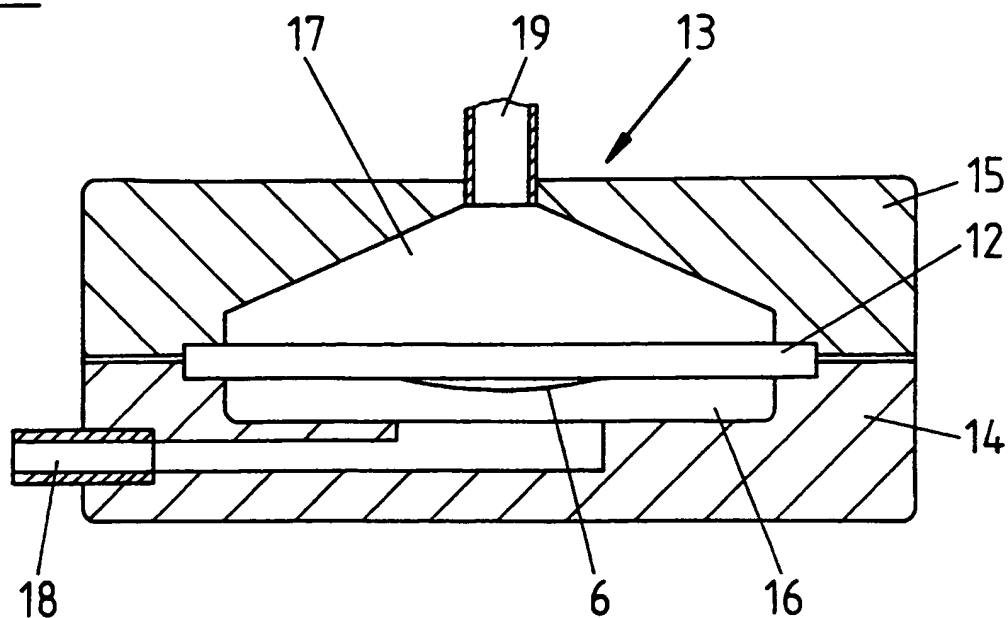


Fig. 7

